

## WEST

 Generate Collection

L5: Entry 5 of 34

File: JPAB

Sep 16, 1997

PUB-NO: JP409238647A

DOCUMENT-IDENTIFIER: JP 09238647 A

TITLE: FOOD FOR CANCER PREVENTION

PUBN-DATE: September 16, 1997

## INVENTOR- INFORMATION:

NAME

COUNTRY

ISHIKAWA, FUMIYASU

MIZOBUCHI, NAOHIRO

AIYAMA, RITSUO

YOKOKURA, TERUO

## ASSIGNEE- INFORMATION:

NAME

COUNTRY

YAKULT HONSHA CO LTD

N/A

APPL-NO: JP08051646

APPL-DATE: March 8, 1996

INT-CL (IPC): A23L 1/30; A23C 11/10; A23L 1/20; A23L 2/52; A23L 2/38; A61K 35/74; A61K 35/78; C12N 1/16; C12N 1/20

## ABSTRACT:

PROBLEM TO BE SOLVED: To obtain a food for a cancer prevention containing isoflavones obtained by effecting microorganisms to a soybean milk and to provide a method for producing the same.

SOLUTION: This food a cancer prevention is obtained by effecting one kind or two or more kinds microorganism selected from microorganisms belonging to the genuses of Lactobacillus, Bifidobacterium, Streptococcus, Bacillus, Saccharomyces, Torulaspora and Candida and having an activity of isolating isoflavones by affecting isoflavone glycoside in a soybean milk, and can prevent the cancer safely, and the method for prducing the same.

COPYRIGHT: (C)1997, JPO

(19)日本国特許庁 (JP)

(12) **公開特許公報 (A)**

(11)特許出願公開番号

**特開平9-238647**

(13)公開日 平成9年(1997)9月16日

(51)Int.Cl. <sup>6</sup> A 2 3 L 1/30	識別記号	府内整理番号	F 1 A 2 3 L 1/30	技術表示箇所 B Z
A 2 3 C 11/10		A 2 3 C 11/10		
A 2 3 L 1/20 2/52		A 2 3 L 1/20 2/38		Z D
審査請求 未請求 請求項の数 3 O L (全 7 頁) 最終頁に続く				

(21)出願番号 特願平8-51646	(71)出願人 株式会社ヤクルト本社 東京都港区東新橋1丁目1番19号
(22)出願日 平成8年(1996)3月8日	(72)発明者 石川 文保 株式会社ヤクルト本社内 溝瀬 尚宏 東京都港区東新橋1丁目1番19号 株式会社ヤクルト本社内 相山 律男 東京都港区東新橋1丁目1番19号 株式会社ヤクルト本社内 (74)代理人 弁理士 有賀 三幸 (外4名) 最終頁に続く

(54)【発明の名称】 がん予防食品

(57)【要約】

【解決手段】 ラクトバチルス属微生物、ビフィドバクテリウム属微生物、ストレプトコッカス属微生物、バチルス属微生物、サッカロマイセス属微生物、トルラスピラ属微生物及びカンジダ属微生物から選ばれる一種又は二種以上の微生物であって、豆乳中のイソフラボン配糖体に作用してイソフラボン類を遊離させる能力のある微生物を豆乳に作用させて得られるがん予防食品及びその製法。

【効果】 安全にがんを予防することができる。

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 ラクトバチルス属微生物、ビフィドバクテリウム属微生物、ストレプトコッカス属微生物、バチルス属微生物、サッカロマイセス属微生物、トルラスピラ属微生物及びカンジダ属微生物から選ばれる一種又は二種以上の微生物であって、豆乳中のイソフラボン配糖体に作用してイソフラボン類を遊離させる能力のある微生物を豆乳に作用させて得られるがん予防食品。

【請求項2】 ラクトバチルス属微生物、ビフィドバクテリウム属微生物、ストレプトコッカス属微生物、バチルス属微生物、サッカロマイセス属微生物、トルラスピラ属微生物及びカンジダ属微生物から選ばれる一種又は二種以上の微生物であって、豆乳中のイソフラボン配糖体に作用してイソフラボン類を遊離させる能力のある微生物を豆乳に作用させることを特徴とするがん予防食品の製造方法。

【請求項3】 イソフラボン類がゲニステイン又はダイゼインである請求項1記載のがん予防食品。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、豆乳に微生物を作用させて得られるイソフラボン類を含有するがん予防食品及びその製造方法に関する。

## 【0002】

【従来の技術】大豆にはイソフラボン類が0.1~0.4重量% (以下、単に「%」という) 含まれており、そのほとんどがゲニスチンやダイジン等の配糖体の形で存在する。このゲニスチンやダイジンのアグリコンであるゲニステインやダイゼインはがんに対する化学予防効果が期待されている物質である。ゲニステインやダイゼインが示す抗がん関連の作用としては、女性ホルモン様の作用 (K. D. R. Setchell, In *Estrogens in the Environment*, ed by J. A. McLachlan, pp60 ~85p Elsevier Science Publishing Co, Inc, New York, 1985) 、チロシンキナーゼ活性の阻害作用 (T. Akiyama, et al, *J. Biol. Chem.*, 262, 5592, 1987) 、がん細胞転移の抑制作用 (S. C. Mueller et al, *J. Cell Biol.*, 119, 1309, 1992) 、血管新生の阻害作用 (T. Fotsis, et al, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 90, 2690, 1993) 、培養がん細胞の増殖阻害 (A. Okura, et al, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 157, 183, 1988) 、発がん遺伝子発現の抑制 (J. Zwiller, et al, *Oncogene*, 6, 219, 1991) 、実験的発がんの抑制 (O. P. Sharma, et al, *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, 43, 557, 1992) 、結腸上皮における異型性クリプト生成の抑制 (V. E. Steele, et al, *J. Nutr.*, 125, 713S, 1995) 、がん細胞の分化誘導の促進 (K. Kiguchi, et al, *Cancer Commun.*, 2, 271, 1990) 、抗酸化活性と抗炎症作用 (H. Wei, et al, *Nutr. Cancer*, 20, 1, 1993) などが知られている。

【0003】イソフラボンの持つ抗がん作用以外の機能として、血清LDL低下作用 (F. Balmis, et al, *J. Nutr.*, 125, 803S, 1995) や骨吸収の抑制 (J.J. Andersson, et al, *J. Nutr.*, 125, 799S, 1995) やマクロファージの一酸化窒素生成の抑制 (W. Krol, et al, *Biochem Pharmacol.*, 50, 1031, 1995) などが知られており、脂質代謝改善効果あるいは抗動脈硬化効果あるいは抗骨粗鬆症効果あるいは抗炎症効果などが期待される。なおがんに対する化学予防効果を持つと考えられるアグリコンのイソフラボン (ゲニステインやダイゼインなど) が含まれている食品として、テンペや味噌などの大豆の発酵食品が知られている (H. Wang and P. A. Murphy, *J. Agric. Food Chem.*, 42, 1666, 1994; H. Wang and P. A. Murphy, *J. Agric. Food Chem.*, 42, 1674, 1994) 。

【0004】そこで、大豆の加水抽出液である豆乳を用い、ゲニステインやダイゼインを含有する食品を製造することが考えられるが、多くの場合、イソフラボン類は

これらの含量は少ない。例えば、豆腐は、加水処理の過程で総イソフラボン含量が大きく減少してしまう。

## 【0005】

【発明が解決しようとする課題】従って本発明の目的は、イソフラボン類を多量に含み、がん予防効果のある食品及びその製造方法を提供することにある。

## 【0006】

【課題を解決するための手段】斯かる実情に鑑み本発明者は、イソフラボン類を多量に含む食品を得るべく鋭意研究を行った結果、イソフラボン配糖体からイソフラボン類を遊離させる能力のある微生物をスクリーニングし、これにより豆乳を処理することにより、イソフラボン類を多量に含むがん予防食品が得られることを見出しこの発明を完成した。

【0007】すなわち本発明は、ラクトバチルス属微生物、ビフィドバクテリウム属微生物、ストレプトコッカス属微生物、バチルス属微生物、サッカロマイセス属微生物、トルラスピラ属微生物及びカンジダ属微生物から選ばれる一種又は二種以上の微生物であって、豆乳中のイソフラボン配糖体に作用してイソフラボン類を遊離させる能力のある微生物を豆乳に作用させて得られるがん予防食品の第一の発明及びこの微生物を豆乳に作用させることを特徴とするがん予防食品の製造方法の第二の発明を提供するものである。

## 【0008】

【発明の実施の形態】本発明において原料となる豆乳は、油脂を含有した丸大豆、脱皮大豆又はフレーク大豆等を原料としたものが好ましいが、脱脂大豆を原料としたものであってもよい。

【0009】豆乳は原料を水につけた後、熱水又は0.5~1.0%の炭酸ナトリウムを含む熱水を添加して摩碎後、おからを除き、更に加熱殺菌して製造することが

できるが、本発明で用いる豆乳はいかなる方法で製造されたものであってもよい。

【0010】豆乳には、後の微生物処理のために、ショ糖、ブドウ糖、果糖、転化糖等の食品に用いられる糖；肉エキス、ペプトン、酵母エキス、ペプチド等の微生物の増殖に必要な栄養素を添加してもよい。また微生物の至適pHに調整するために豆乳にクエン酸、リンゴ酸、アスコルビン酸、乳酸、酢酸等の食品に用いられる酸を添加してもよい。

\* 【0011】本発明のがん予防食品は、豆乳に微生物を作用させて得られる。ここで用いる微生物は、豆乳中のイソフラボン配糖体に作用してイソフラボン類を遊離させる能力があり、ラクトバチルス属微生物、ビフィドバクテリウム属微生物、ストレプトコッカス属微生物、バチルス属微生物、サッカロマイセス属微生物、トルラスピラ属微生物及びカンジダ属微生物から選ばれる一種又は二種以上の微生物が好ましい。具体的には、次の微生物が挙げられる。

<i>Lactobacillus</i>	<i>acidophilus</i>	YIT 0168(FERM P-6262)
<i>Lactobacillus</i>	<i>acidophilus</i>	JCM 1229
<i>Lactobacillus</i>	<i>gasseri</i>	DSM 20243
<i>Lactobacillus</i>	<i>plantarum</i>	ATCC 14947
<i>Lactobacillus</i>	<i>buchneri</i>	ATCC 4005
<i>Lactobacillus</i>	<i>casei</i>	ATCC 393
<i>Lactobacillus</i>	<i>casei</i>	YIT 9029(FERM BP-1366)
<i>Lactobacillus</i>	<i>johsonii</i>	JCM 2012
<i>Lactobacillus</i>	<i>gallinarum</i>	JCM 2013
<i>Lactobacillus</i>	<i>amylovorus</i>	JCM 1126
<i>Lactobacillus</i>	<i>brevis</i>	ATCC 14869
<i>Lactobacillus</i>	<i>rhamnosus</i>	ATCC 7469
<i>Lactobacillus</i>	<i>rhamnosus</i>	ATCC 53103
<i>Lactobacillus</i>	<i>kefir</i>	NRIC 1693
<i>Lactobacillus</i>	<i>paracasei</i>	NCDO 151
<i>Lactobacillus</i>	<i>crispatus</i>	JCM 1185
<i>Streptococcus</i>	<i>thermophilus</i>	YIT 2001(FERM P-11891)
<i>Bifidobacterium</i>	<i>bifidum</i>	YIT 4060(FERM P-15489)
<i>Bifidobacterium</i>	<i>longum</i>	YIT 4078(FERM P-15490)
<i>Bifidobacterium</i>	<i>adolescentis</i>	ATCC 15703
<i>Bifidobacterium</i>	<i>infantis</i>	ATCC 25962
<i>Bifidobacterium</i>	<i>breve</i>	YIT 4065(FERM P-15488)
<i>Bacillus</i>	<i>subtilis</i>	IFO 3336
<i>Saccharomyces</i>	<i>cerevisiae</i>	IFO 2018
<i>Saccharomyces</i>	<i>cerevisiae</i>	ATCC 32120
<i>Saccharomyces</i>	<i>cerevisiae</i>	AJ 5260
<i>Saccharomyces</i>	<i>bayanus</i>	CBS 425
<i>Torulaspora</i>	<i>delbrueckii</i>	CBS 705
<i>Torulaspora</i>	<i>delbrueckii</i>	IFO 425
<i>Candida</i>	<i>kefyr</i>	IFO 10287

これらのうち、特に好ましい微生物としては、イソフラボン類の量が、未処理の豆乳の4倍以上となるもの、すなわち増加率が300%以上のものである。

【0012】上記微生物を豆乳に作用させる方法は特に限定されず、例えば、培養した微生物の菌液を上記豆乳液に接種した後、その微生物に適した温度、時間、好気性菌なら通気性等の条件を適宜決定して発酵を行えばよい。なお、発酵は、菌株を複数種組み合せた混合発酵であってもよいし、菌株を複数種組み合せた連続発酵であってもよい。

【0013】微生物を作用させた豆乳は、そのままがん※50

40※予防食品として製品化することができるが、食品や経口医薬品に通常使用されている添加物を加えてよい。ここで用いる添加物としては、糖類、タンパク質、脂質、ビタミン類、植物抽出物、動物抽出物、微生物抽出物、香料、着色剤等が挙げられる。また、がん予防食品としては、豆乳飲料に限らず、豆乳ヨーグルト、豆乳プリン、豆腐等種々のものが挙げられる。

【0014】

【発明の効果】本発明のがん予防食品は、ダイゼインやゲニステイン等のがん予防効果のあるイソフラボン類を多量に含むので、がん予防効果が期待できると同時に安

全な食品である。またダイゼインやグニステインは、活性酸素に対する抗酸化活性を示すことから、本発明食品は抗酸化活性も期待できる。

## 【0015】

【実施例】以下実施例を挙げて本発明を更に詳細に説明するが、本発明はこれらに限定されるものではない。

## 【0016】実施例1

## (1) 豆乳の微生物処理(発酵)

素豆乳(粗タンパク質5%、粗脂肪3%、Brix 12、pH 7.4) 1kgとブドウ糖10gを混合し、クエン酸でpH 10

H6.8に調節した後、100°C、90分間蒸気滅菌し\*

\*で発酵用素豆乳を調製した。前培養した微生物(表1)の菌液を上記豆乳液に接種した後、30°C又は37°Cで発酵が確認される培養時間だけ静置培養した。なお好気的発酵では培養容器を綿栓あるいはシリコン栓などの通気性を持つもので栓をし、また嫌気的発酵では培養容器の気相を窒素で置換した後密閉した。その結果表1に示すように、各菌種菌株によって豆乳が発酵され、pHが低下することが示された。

## 【0017】

【表1】

菌種	培養条件	培養温度(°C)	培養期間(日)	発酵物のpH
Lactobacillus acidophilus YIT 0168(ERM P-6262)	静置・好気	37	2	4.4
Lactobacillus acidophilus JCM 1229	静置・好気	37	2	5
Lactobacillus gasseri DSM 20243	静置・好気	37	2	4.5
Lactobacillus plantarum ATCC 14947	静置・好気	30	1	4.6
Lactobacillus buchneri ATCC 4005	静置・好気	37	6	4.4
Lactobacillus casei ATCC 333	静置・好気	37	1	4.1
Lactobacillus casei YIT 9029(ERM BP-1386)	静置・好気	37	1	4.1
Lactobacillus johnsonii JCM 2012	静置・好気	37	1	5.2
Lactobacillus rhamnosus JCM 2011	静置・好気	37	1	4.1
Lactobacillus amylovorus JCM 1126	静置・好気	37	2	4.2
Lactobacillus brevis ATCC 14869	静置・好気	37	6	4.6
Lactobacillus rhamnosus ATCC 7469	静置・好気	37	1	4.9
Lactobacillus rhamnosus ATCC 53103	静置・好気	37	1	4.2
Lactobacillus kefir NRRL 1693	静置・好気	37	1	4.1
Lactobacillus paracasei NCDO 151	静置・好気	30	2	5.5
Lactobacillus crispatus JCM 1185	静置・好気	30	1	4.1
Streptococcus thermophilus YIT 2001(ERM P-11891)	静置・好気	37	6	4.7
Bifidobacterium bifidum YIT 4000(ERM P-15489)	静置・嫌気	37	2	4.4
Bifidobacterium longum YIT 4078(ERM P-15490)	静置・嫌気	37	2	4.5
Bifidobacterium adolescentis ATCC 15703	静置・嫌気	37	2	4.3
Bifidobacterium infantis ATCC 25962	静置・嫌気	37	2	4.9
Bifidobacterium breve YIT 4065(ERM P-15488)	静置・嫌気	37	2	5
				4.2

## 【0018】(2) 微生物処理後の豆乳中のイソフラボン含量の測定

(1) で得た、豆乳発酵物1mlにエタノール3mlを添加して十分混和した後、遠心分離して得た上清をメンブランフィルターで汎過した。この液を高速液体クロマトグラフィーにかけてイソフラボンを定量した。高速液体クロマトグラフィーの条件は、カラムYMC-Pack \*

※C4(4.6-150mm)、移動相10%酢酸/メタノ

30 ール溶液(73:27)、カラム温度50°C、流速2ml/min、検出UV 260nmである。イソフラボン含量を表2に示す。

## 【0019】

【表2】

豆乳の種類	ダイゼイン量 (μg/ml)	増加率 (%)	ゲニステイン量 (μg/ml) 増加率 (%)	
			2.7	2.2
Lactobacillus casei	YIT 9029 (FERM BP-1366)	0	885	2.2
Lactobacillus paracasei	YIT 0168 (FERM P-6262)	26.6	885	53.8
Lactobacillus paracasei	JCM 1229	16.6	515	54.5
Lactobacillus paracasei	DSM 20243	38.5	1363	100.1
Lactobacillus paracasei	ATCC 14547	104.5	3776	108.1
Lactobacillus paracasei	ATCC 4005	63.1	2237	97.5
Lactobacillus paracasei	ATCC 393	103.7	3741	137.2
Lactobacillus paracasei	YIT 9029 (FERM BP-1366)	112.5	4104	141.8
Lactobacillus johnsonii	JCM 2012	21.6	700	45.3
Lactobacillus johnsonii	JCM 2011	66.1	2348	127.9
Lactobacillus salinorum	JCM 1128	58.8	2078	106.9
Lactobacillus salinorum	ATCC 14869	107.5	3881	126.2
Lactobacillus brevis	ATCC 7459	110.9	4007	137.8
Lactobacillus rhamnosus	ATCC 53103	114.1	4126	143.9
Lactobacillus rhamnosus	NRIG 1693	96.5	3474	107.8
Lactobacillus kefir	NODDO 151	115.1	4183	141.8
Lactobacillus paracasei	JCM 1185	18.1	570	58.2
Lactobacillus paracasei	YIT 2001 (FERM P-11891)	4.1	52	4.5
Lactobacillus crispatus	YIT 4060 (FERM P-15489)	71.6	2532	167
Lactobacillus crispatus	YIT 4078 (FERM P-15490)	3.7	37	4
Saccharomyces cerevisiae	YIT 4065 (FERM P-15488)	98.7	3556	170.7
Bifidobacterium bifidum	ATCC 15703	10.8	330	30.6
Bifidobacterium bifidum	ATCC 25982	70.5	2511	183.3
Bifidobacterium longum	YIT 4065 (FERM P-15488)	82.32		
Bifidobacterium adolescentis				
Bifidobacterium infantis				
Bifidobacterium breve				

【0020】*Lactobacillus casei*、*Lactobacillus paracasei*、*Lactobacillus brevis*、*Lactobacillus rhamnosus*、*Bifidobacterium breve*、*Bifidobacterium bifidum*及び*Bifidobacterium adolescentis*はイソフラボン生成能が非常に高かった。このことから、ここで示した各菌種の微生物はイソフラボンを含有する豆乳加工食品の製造に有用であることが判る。

40

【0021】実施例2

\* 好気性微生物による豆乳の処理と処理後のイソフラボン含量の測定：実施例（1）で調製した発酵用素豆乳に、前培養した好気的微生物の菌液を接種した後、30℃、好気的に2日間振盪培養して豆乳の発酵物を得た。これら発酵物を実施例1（2）に示した方法に従ってイソフラボンであるダイゼインやゲニステインを定量した。

【0022】

【表3】

9  
好気的微生物による豆乳の発酵物中のアグリコンのイソフラボン含量

豆乳の種類	培養条件	培養温度(°C)	培養期間(日)	ダイゼイン量(μg/ml)	増加率(%)	ゲニステイン量(μg/ml)	増加率(%)
素豆乳				2.7	0	2.2	0
Bacillus subtilis IPO 3336	振盪・好気	30	2	93.1	3348	106.9	4759
Saccharomyces cerevisiae IPO 2018	振盪・好気	30	2	103.5	3733	119.2	5318
Saccharomyces cerevisiae ATCC 32120	振盪・好気	30	2	99.7	3599	115.3	5141
Saccharomyces cerevisiae AJ 5260	振盪・好気	30	2	104.6	3774	119.6	5336
Saccharomyces bayanus CBS 425	振盪・好気	30	2	86.2	3093	86.5	3832
Torulaspora delbrueckii CBS 705	振盪・好気	30	2	99.2	3574	116.2	5182
Torulaspora delbrueckii IPO 425	振盪・好気	30	2	102.5	3696	120.1	5359
Candida kefyr IPO 10287	振盪・好気	30	2	99.1	3570	115.3	5141

【0023】表3に示すように、各菌種菌株による豆乳発酵物は素豆乳に比べてイソフラボンであるダイゼインやゲニステインを多量に含有することが示された。この\*

\*ことから、これらの微生物はイソフラボンを含有する豆乳加工食品の製造に有用であることが判る。

(51) Int.CI. <sup>6</sup>	識別記号	府内整理番号	F I	技術表示箇所
A 2 3 L 2/38			A 2 3 L 2/38	G
// A 6 1 K 35/74			A 6 1 K 35/74	A
35/78	ADU		35/78	ADU J
C 1 2 N 1/16			C 1 2 N 1/16	G
1/20			1/20	A
(C 1 2 N 1/16			A 2 3 L 2/00	F
C 1 2 R 1:645)				
(C 1 2 N 1/16				
C 1 2 R 1:72)				
(C 1 2 N 1/16				
C 1 2 R 1:85)				
(C 1 2 N 1/16				
C 1 2 R 1:865)				
(C 1 2 N 1/20				
C 1 2 R 1:01)				
(C 1 2 N 1/20				
C 1 2 R 1:225)				
(C 1 2 N 1/20				
C 1 2 R 1:23)				
(C 1 2 N 1/20				
C 1 2 R 1:24)				
(C 1 2 N 1/20				
C 1 2 R 1:245)				
(C 1 2 N 1/20				
C 1 2 R 1:25)				
(C 1 2 N 1/20				
C 1 2 R 1:46)				
(C 1 2 N 1/20				
C 1 2 R 1:125)				

(72)発明者 横倉 煙男  
東京都港区東新橋1丁目1番19号 株式会  
社ヤクルト本社内